



⑬ BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 197 18 909 A 1**

⑤ Int. Cl. 8:  
**G 02 B 21/00**

2/6

DE 197 18 909 A 1

⑲ Aktenzeichen: 197 18 909.1  
⑳ Anmeldetag: 5. 5. 97  
㉑ Offenlegungstag: 13. 11. 97

③① Unionspriorität:

118130 03.05.96 IL

⑦① Anmelder:

Yeda Research and Development Co., Ltd., Rehovot,  
IL

⑦④ Vertreter:

V ssius & Partner GbR, 81675 München

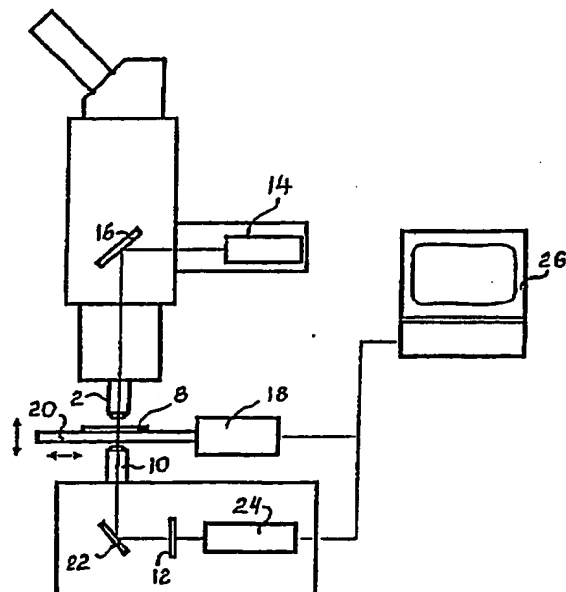
⑦② Erfinder:

Silberberg, Yaron, Rehovot, IL

FP01-0008
-00EP-SC
03.10.27
SEARCH REPORT

⑤④ Vorrichtung und Verfahren für Laser-Rastermikroskopie

⑤⑦ Durch die vorliegende Erfindung wird ein Verfahren zum Bestimmen der Feinstruktur von Materialien durch ein nichtlineares Laser-Rastermikroskop bereitgestellt, wobei das Verfahren die Schritte aufweist: Erzeugen eines Bildes einer Probe (8) durch Abtasten ausgewählter Punkte der Probe (8) durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz  $w$ , um die Punkte anzuregen und Signale zu erzeugen, die die dritte Oberwellenfrequenz  $3w$  bezüglich der Grundfrequenz  $w$  aufweisen, Sammeln der Signale durch eine Sammeleinrichtung (10), Herausfiltern im wesentlichen aller Signale mit einer von der dritten Oberwellenfrequenz  $3w$  verschiedenen Frequenz aus den gesammelten Signalen, Zuführen der gefilterten Signale mit der Frequenz  $3w$  zu einem Detektor (24) und Speichern des Ausgangssignals des Detektors für eine Verarbeitung und für eine Darstellung. Ferner wird ein nichtlineares Laser-Rastermikroskop bereitgestellt, das dazu geeignet ist, ein Bild einer Probe (8) durch punktwises Abtasten der Probe (8) durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz zu erzeugen.



DE 197 18 909 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft den Bereich der optischen Mikroskopie und insbesondere ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Bestimmen der Weinstruktur von Materialien mit Hilfe der Laser-Rastermikroskopie.

In der modernen optischen Mikroskopie werden zunehmend verschiedenartige Laser-Rastermikroskopieverfahren verwendet, wie beispielsweise die konfokale Mikroskopie. Dabei ergeben sich zahlreiche Vorteile, z. B. eine erhöhte Tiefenempfindlichkeit, wodurch Querschnittsansichten der Proben erhalten werden können, sowie eine digitale Bilderfassung, wodurch verschiedenartige digitale Bildverarbeitungsverfahren ermöglicht werden.

Ein bekanntes Problem in der optischen Mikroskopie ist jedoch die Beobachtung und Untersuchung lichtdurchlässiger Objekte oder Proben. Um eine Phaseninformation von solchen Proben zu erhalten, wurden einige ausgeklügelte Verfahren entwickelt, wie beispielsweise ein Phasenkontrastverfahren bzw. die Phasenkontrastmikroskopie, bei der nicht-beobachtbare Phasenunterschiede des eine Probe durchlaufenden Lichts in beobachtbare Amplitudenunterschiede umgewandelt werden, oder die Differential-Interferenzkontrastmikroskopie, durch die ähnliche Ergebnisse erzielt werden.

Diese Verfahren basieren jedoch auf dem linearen Brechungsindex  $n$  des Mediums, der, z. B. für optische Gläser, sich höchstens um einen Faktor 2 ändert, was insgesamt gesehen ein zu schmaler Bereich zum Auflösen feiner Unterschiede zwischen Inhomogenitäten oder Unregelmäßigkeiten eines lichtdurchlässigen Mediums, naher Grenzflächen und von in anderen Medien eingebetteten dünnen Schichten ist, deren lineare Brechungsindizes  $n$  sich jeweils nur um sehr kleine Werte unterscheiden.

Um diese Schwierigkeiten zu Überwinden, wurde ein optisches Rastermikroskop entwickelt, durch das Abbildungen basierend auf zweiten Oberwellen erzeugt werden. Obwohl durch dieses Mikroskop bessere Kontrastpegel und eine bessere Auflösung von Details erzielt werden soll als durch herkömmliche Mikroskopie, ist die Verwendung des basierend auf zweiten Oberwellen arbeitenden Mikroskops auf die Beobachtung von Materialien begrenzt, die eine nicht-zentrischsymmetrische Struktur aufweisen, und damit lediglich auf bestimmte kristalline Materialien und andere besonders strukturierte bzw. aufgebaute Materie.

Daher ist es eine Aufgabe der Erfindung, die Nachteile und Einschränkungen der vorstehend beschriebenen herkömmlichen Verfahren bzw. Systeme zu überwinden und ein Laser-Rastermikroskop bereitzustellen, durch das hochaufgelöste Bilder von Proben einer beliebigen Materialart erzeugt werden können.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch ein Verfahren zum Bestimmen der Feinstruktur von Materialien durch ein nichtlineares Laser-Rastermikroskop gelöst, wobei das Verfahren die Schritte aufweist: Erzeugen eines Bildes einer Probe durch Abtasten ausgewählter Stellen bzw. Punkte der Probe durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz  $w$ , um die Punkte anzuregen und Signale zu erzeugen, die die dritte Oberwellenfrequenz  $3w$  bezüglich der Grundfrequenz  $w$  aufweisen, Sammeln der Signale durch eine Sammeleinrichtung, Herausfiltern im wesentlichen aller Signale für eine von der dritten Oberwellenfrequenz  $3w$  verschiedenen Frequenz aus den gesammelten Signalen, Zuführen der gefilterten Signale

mit der Frequenz  $3w$  zu einem Detektor und Speichern des Ausgangssignals des Detektors für eine Verarbeitung und für eine Darstellung.

Durch die Erfindung wird ferner ein nichtlineares Laser-Rastermikroskop bereitgestellt, das dazu geeignet ist, ein Bild einer Probe durch punktwises Abtasten der Probe durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz zu erzeugen, um die Punkte anzuregen und Signale zu erzeugen, die eine Oberwellenfrequenz bezüglich der Grundfrequenz aufweisen, wobei die Signale in einer Speichereinrichtung gespeichert werden, um sie zu verarbeiten und darzustellen, und die Oberwellenfrequenz die dritte Oberwellenfrequenz bezüglich der Grundfrequenz ist. In einem Bereich von hochintensivem Licht der Frequenz  $w$  erzeugen alle Materialien einen Anteil von Licht mit der dritten Oberwellenfrequenz  $3w$ , wobei dieser Anteil von der dritten Potenz dem einfallenden Lichts und vom nichtlinearen Materialkoeffizienten  $X^{(3)}$  abhängt. Er hängt außerdem vom Phasenanpassungszustand, d. h. von der Beziehung der Phasengeschwindigkeiten der Grund- und der Oberwelle ab. Es ist bekannt, daß, auch bei einer perfekten Phasenanpassung, ein eng fokussierter Strahl in einem homogenen Medium aufgrund der Geometrie der Wechselwirkung keine dritte Oberwelle erzeugt, dennoch hat sich gezeigt, daß deutliche Signale mit der dritten Oberwellenfrequenz in inhomogenen Medien, nahen Grenzflächen und in dünnen Materialschichten, die in anderen Medien eingebettet sind, erzeugt werden können. Diese Signale werden auch dann erzeugt, wenn die Brechungsindizes der Schichten sehr nahe beieinander liegen, wie nachstehend beschrieben. Durch ein Laser-Rastermikroskop, durch das das erzeugte Licht mit der dritten Oberwellenfrequenz gemessen wird, werden Grenzflächen und kleine Objekte erfaßt, deren Erzeugungskoeffizient oder -wirkungsgrad für die dritte Oberwelle sich von demjenigen des umgebenden Mediums unterscheidet.

Der Erzeugungswirkungsgrad für die dritte Oberwelle unterscheidet sich für verschiedene lichtdurchlässige Materialien (d. h. weit von optischen Resonanzen) wesentlich. Für verschiedene optische Gläser kann sich  $X^{(3)}$  beispielsweise um einen Faktor 100 unterscheiden, während, wie vorstehend beschrieben, die Brechungsindizes  $n$  der Materialien sich möglicherweise nur um einen Faktor 2 unterscheiden. Durch eine Näherungstheorie für Gase wird vorausgesagt, daß  $X^{(3)} = (n^2 - 1)^4$  ist, und die Intensität des Lichts mit der dritten Oberwellenfrequenz proportional zu  $[X^{(3)}]^2 (n^2 - 1)^8$  ist, was bedeutet, daß kleine Indexunterschiede in große Erzeugungswirkungsgrade für die dritte Oberwelle umgewandelt werden. Die Erzeugung der dritten Oberwelle sollte daher zum Erfassen von Materialunterschieden geeignet sein. Außerdem kann durch ein derartiges Mikroskop aufgrund der auftretenden Nichtlinearität ein Volumen untersucht werden, das kleiner ist als seine tatsächliche Feld- oder Rastertiefe, so daß das Mikroskop eine sehr gute räumliche Auflösung sowohl in der Tiefen- als auch in der Seitenrichtung aufweist.

Die Erfindung wird nachstehend in Verbindung mit bestimmten bevorzugten Ausführungsformen unter Bezug auf die beigefügten schematischen Figuren beschrieben; es zeigen:

Fig. 1 das Prinzip der Arbeitsweise eines basierend auf den dritten Oberwellen arbeitenden Mikroskops;

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer ersten Ausführungsform eines nichtlinearen Rastermikroskops;

Fig. 3 eine schematische Darstellung einer zweiten Ausführungsform eines nichtlinearen Rastermikroskops;

Fig. 4 die Intensität der Erzeugung der dritten Oberwellen und die Auflösung während eines z-Achsen-Abtastvorgangs eines 15  $\mu\text{m}$  dicken Wasserfilms zwischen zwei Glasplatten, wobei der Brennpunkt des Objektivs an der Grenzfläche liegt;

Fig. 5 eine ähnliche Probe, wobei der Wasserfilm etwa 1,5  $\mu\text{m}$  dick ist;

Fig. 6 die Abtastergebnisse für eine Probe mit einem Wasserfilm mit einer Dicke von etwa 1  $\mu\text{m}$ ; und

Fig. 7 die Abtastergebnisse eines 15  $\mu\text{m}$  dicken Ölfilms zwischen zwei Glasplatten.

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung der Arbeitsweise des basierend auf den dritten Oberwellen arbeitenden Mikroskops. Das Mikroskopobjektiv 2 fokussiert einen hochintensiven Kurzpuls-Laserstrahl 4 mit einer Grundfrequenz  $w$  zu einem kleinen Lichtfleck 6 innerhalb der Probe 8, wo eine dritte Oberwelle TH mit einer Frequenz  $3w$  erzeugt wird. Die dritte Oberwelle wird durch eine Sammellinse 10 gesammelt, durchläuft ein Filter 12, in dem jegliche Restanteile des Originalstrahls mit der Grundfrequenz  $w$  herausgefiltert werden, und wird schließlich erfaßt. Die Probe  $e$  wird entweder durch Bewegungen der Probe in die x- und/oder y- und/oder z-Richtung (d. h. entlang einer Linie und/oder über eine Ebene und/oder durch ein Volumen) oder durch Bewegen des Laserstrahls abgetastet. Die von allen Punkten erzeugten Signale mit der dritten Oberwellenfrequenz werden elektronisch erfaßt, um ein Bild zu erzeugen.

Fig. 2 zeigt eine schematische Darstellung einer ersten Ausführungsform eines nichtlinearen Laser-Rastermikroskops. Es ist eine hochintensive Laserquelle 14 dargestellt, die eine Kurzpulsquelle sein muß, so daß die erforderliche Spitzenleistung erreicht werden kann, ohne daß mittlere Leistungspegel erreicht werden, durch die die Probe zerstört würde. Am geeignetsten sind Laserquellen im nahen Infrarotbereich (zwischen 1 und 2  $\mu\text{m}$ ), so daß das erzeugte Licht mit der dritten Oberwellenfrequenz im sichtbaren Bereich oder in der Nähe des sichtbaren Bereichs liegt. Eine derartige Quelle konnte ein CW-Laser für einen festen Wellentyp oder Modus (CW mode-locked laser) mit Impulsen im subpicosekundenbereich sein, der eine mittlere Leistung von 10 bis 100 mW erzeugt.

Fig. 2 zeigt außerdem einen dichroitischen Strahlenteiler 16, der den Laserstrahl in die Mikroskopachse ablenkt und sichtbares Licht für eine Sichtuntersuchung der Probe durchläßt.

Außerdem ist entlang der optischen Achse des Mikroskops ein normales Hochleistungsmikroskopobjektiv 2 (vergl. auch Fig. 1) dargestellt, durch das das Licht vom Laser 14 in die Probe 8 fokussiert wird, um das Licht mit der dritten Oberwellenfrequenz zu erzeugen.

Bei dieser Ausführungsform wird die Abtastbewegung durch einen Abtastmechanismus 18 erzeugt, der den Mikroskop 20 in vorgegebenen Schritten und Richtungen bewegt.

Das modifizierte Licht, das durch die Sammellinse 10 über einen Ablenkspiegel 22 gesammelt wurde, erreicht nun das Filter 12, wo das gesamte Untergrundlicht mit der Grundfrequenz  $w$  herausgefiltert wird und nur reine Signale mit der dritten Oberwellenfrequenz durchgelassen werden, die durch einen Detektor 24, z. B. einen Photovervielfacher, erfaßt werden. Das elektronisch erzeugte Bild wird auf dem Bildschirm eines Computers

26 dargestellt.

Bei der in Fig. 3 dargestellten modifizierten Ausführungsform wird der Abtastvorgang durch eine bekannte Abtastanordnung 28 durch den Laserstrahl selbst durchgeführt. Außerdem kann der Abtastmechanismus 18 von Fig. 2 mit der Abtastanordnung 28 kombiniert werden.

Die Fig. 4 bis 7 zeigen die Ergebnisse von mit dem in Fig. 2 dargestellten Rastermikroskop durchgeführten Probeläufen. Als Probe diente ein zwischen zwei Glasplatten eingeschlossener dünner Wasserfilm (Fig. 4 bis 6) oder Öl (Fig. 7).

Der Aufbau wies einen bei 1,55  $\mu\text{m}$  emittierenden Kurzpuls-Laser (Spectra-Physics OPAL) auf, und der Strahl wurde unter Verwendung eines Objektivs Zeiss Plan-Achromat  $\times 100$  (N.A. 1,4) in die Probe fokussiert. Die Probe wurde entlang der optischen Achse (z-Achse) in Schritten von 0,1  $\mu\text{m}$  mit Hilfe eines computergesteuerten, durch einen Motor angetriebenen Tisches abgetastet. Das Licht mit der dritten Oberwellenfrequenz hatte eine Wellenlänge von 0,516  $\mu\text{m}$ .

Die Fig. 4 bis 6 zeigen die Intensität der dritten Oberwellensignale (in willkürlichen Einheiten) für einen Wasserfilm, wenn die Probe durch den Brennpunkt des Objektivs bewegt wird. An den beiden Grenzflächen Glas-Wasser-Glas kann eine starke Intensität dritter Oberwellensignale beobachtet werden. Die Intensität dritter Oberwellensignale hat einen Spitzenwert, wenn der Brennpunkt an der Grenzfläche angeordnet ist, und nimmt auf seinen halben Spitzenwert ab, wenn die Probe um etwa 1  $\mu\text{m}$  bewegt wird. Die beiden Grenzflächen können auch dann aufgelöst werden, wenn der Film etwa 1,5  $\mu\text{m}$  dick ist, wie in Fig. 5 dargestellt; unterhalb dieses Wertes können die Grenzflächen nicht mehr aufgelöst werden, wobei eine starke Intensität dritter Oberwellensignale jedoch noch immer die Position des Films kennzeichnet, wie in Fig. 6 dargestellt. Dieses Ergebnis bestätigt, daß kleine (Submikrometer) Objekte durch die Erzeugung dritter Oberwellen erfaßt werden können, die durch die Objekte erzeugt werden, wenn sie in einer gleichmäßigen Matrix eingebettet sind.

Fig. 7 zeigt ein ähnliches Ergebnis für einen 15  $\mu\text{m}$  dicken Ölfilm. Das Öl ist für Mikroskopie verwendetes Immersionsöl ( $n = 1,516$ ), dessen Brechungsindex demjenigen der Glaswände der Zelle angepaßt ist. Trotzdem ist, wie dargestellt, an beiden Glas-Öl-Grenzflächen die Intensität der dritten Oberwellensignale hoch.

Dadurch wird verdeutlicht, daß durch die Erzeugung dritter Oberwellen auch dann Unterschiede zwischen Materialien erfaßt werden können, wenn die linearen Eigenschaften (Brechungsindex  $n$ , Absorptionsvermögen) der Materialien ähnlich sind. Durch die Verwendung dritter Oberwellen könnte eine dreidimensionale Verteilungsmatrix einer Probe erstellt werden und könnten Informationen erhalten werden, die durch gegenwärtig verfügbare andere Mikroskopietechniken nicht oder kaum erhalten werden können.

#### Patentansprüche

1. Verfahren zum Bestimmen der Feinstruktur von Materialien durch ein nichtlineares Laser-Rastermikroskop, mit den Schritten:

Erzeugen eines Bildes einer Probe durch Abtasten ausgewählter Punkte der Probe durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz  $w$ , um die Punkte anzuregen und Signale zu erzeugen, die dritte Oberwellenfrequen-

zen  $3\omega$  bezüglich der Grundfrequenz  $\omega$  aufweisen;  
 Sammeln der Signale durch eine Sammeleinrichtung;  
 Herausfiltern im wesentlichen aller Signale mit einer von der dritten Oberwellenfrequenz  $3\omega$  verschiedenen Frequenz auf den gesammelten Signalen;  
 Zuführen der gefilterten Signale mit der Frequenz  $3\omega$  zu einem Detektor; und  
 Speichern des Ausgangssignals des Detektors für eine Verarbeitung und für eine Darstellung. 10  
 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei der Abtastvorgang durch Erzeugen einer Relativbewegung zwischen dem fokussierbaren Strahl und der Probe durchgeführt wird. 15  
 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei der Abtastvorgang entlang einer Linie und/oder über eine Ebene und/oder durch ein Volumen der Probe durchgeführt wird.  
 4. Nichtlineares Laser-Rastermikroskop zum Erzeugen eines Bildes einer Probe durch punktwises Abtasten der Probe durch einen fokussierbaren Laserstrahl mit einer vorgegebenen Grundfrequenz, um die Punkte anzuregen und Signale zu erzeugen, die eine Oberwellenfrequenz bezüglich der Grundfrequenz aufweisen, wobei die Signale in einer Speichereinrichtung für eine Verarbeitung und Darstellung gespeichert werden, dadurch gekennzeichnet, daß die Oberwellenfrequenz die dritte Oberwellenfrequenz bezüglich der Grundfrequenz ist. 20  
 5. Mikroskop nach Anspruch 4, wobei der Strahl durch einen Kurzimpuls-Laser erzeugt wird.  
 6. Mikroskop nach Anspruch 5, wobei der Kurzimpuls-Laser im nahen Infrarotspektrumbereich betrieben wird, so daß die dritte Oberwelle im sichtbaren oder im Ultraviolett-Wellenlängenbereich angeordnet ist. 25  
 7. Mikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, ferner mit einer Einrichtung zum Erzeugen einer Relativbewegung zwischen dem fokussierbaren Strahl und der Probe. 30  
 8. Mikroskop nach einem der Ansprüche 5 bis 7, wobei der Kurzimpuls-Laserstrahl durch einen CW-Laser für einen festen Modus mit Impulsen im Subpicosekundenbereich erzeugt wird. 35

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

---

50

55

60

65

- Leerseite -

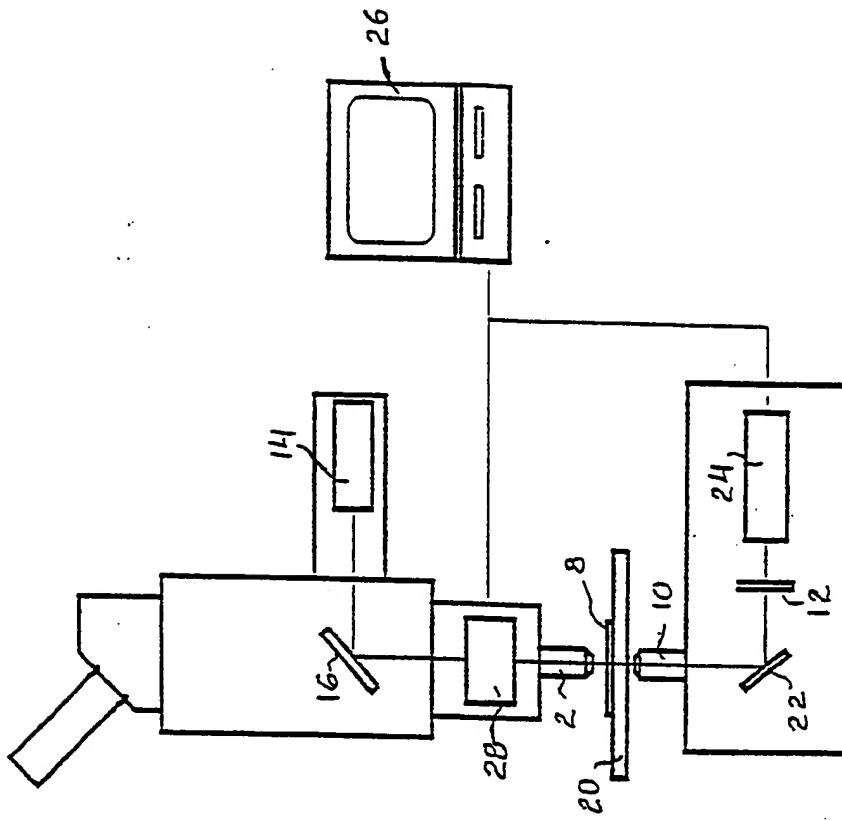


Fig. 3

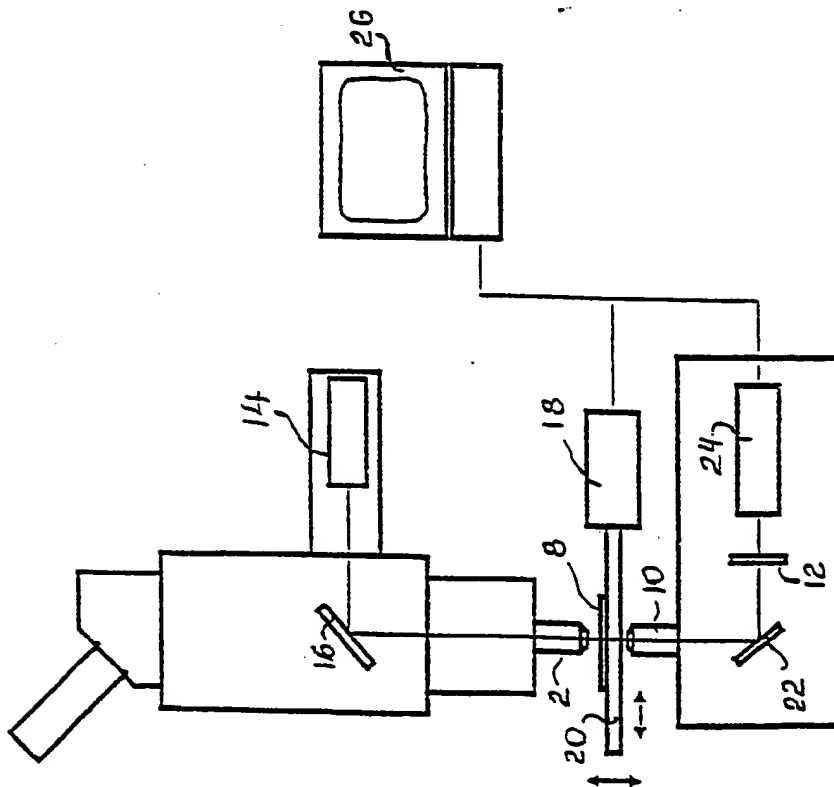


Fig. 2

\*

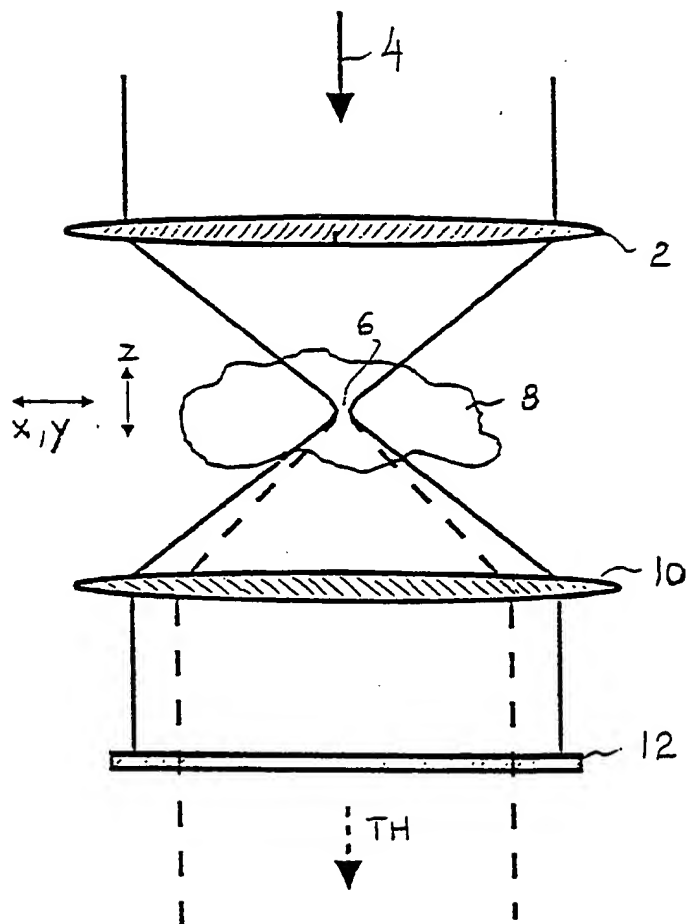


Fig. 1

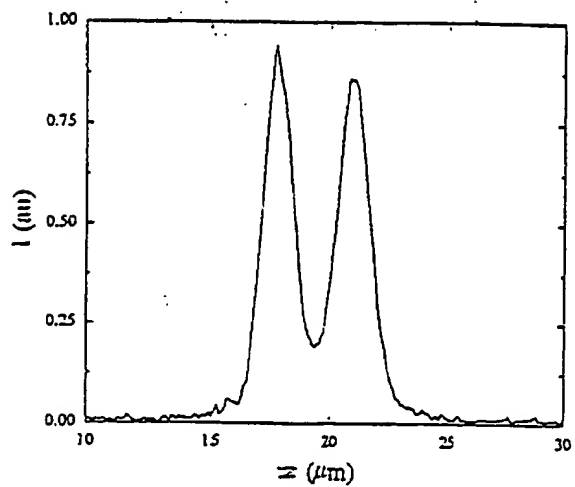


Fig. 4

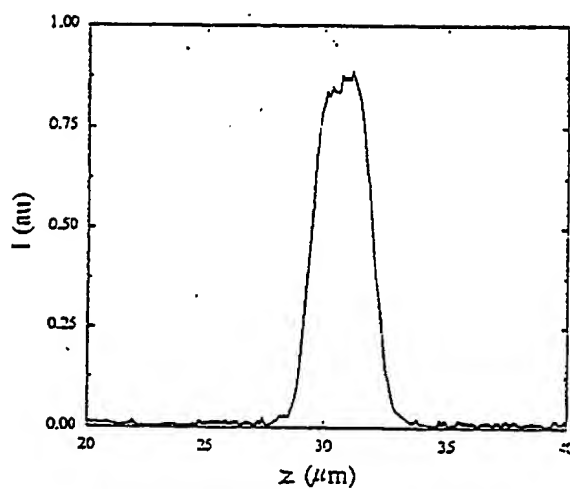


Fig. 6

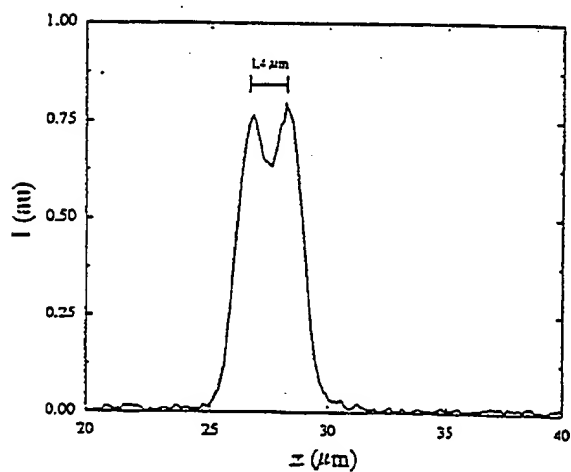


Fig. 5

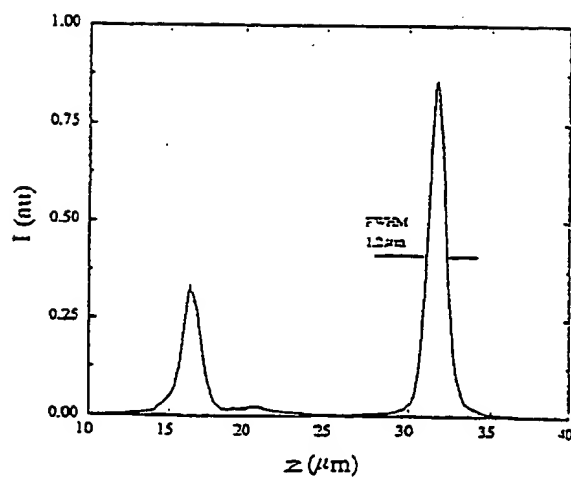


Fig. 7